

研究报告

微生物原位产铁基纳米颗粒提高原油采收率

陈静文¹, 郭浩¹, 王鑫璐¹, 姜义坤¹, 刘晶晶¹, 张凡^{*1}, 邓舒元¹, 王博¹, 魏士平^{*2}

1 中国地质大学(北京)能源学院, 北京 100083

2 中国地质大学(北京)海洋学院, 北京 100083

陈静文, 郭浩, 王鑫璐, 姜义坤, 刘晶晶, 张凡, 邓舒元, 王博, 魏士平. 微生物原位产铁基纳米颗粒提高原油采收率[J]. 微生物学通报, 2025, 52(4): 1415-1429.

CHEN Jingwen, GUO Hao, WANG Xinlu, JIANG Yikun, LIU Jingjing, ZHANG Fan, DENG Shuyuan, WANG Bo, WEI Shiping. Iron nano-particles produced by microorganisms *in situ* enhance oil recovery[J]. Microbiology China, 2025, 52(4): 1415-1429.

摘要:【背景】基于微生物原位产纳米可产生驱油用纳米流体设想。【目的】将微生物产纳米能力与纳米流体提高原油采收率技术相结合, 进行微生物原位产铁基纳米颗粒提高原油采收率研究。【方法】从页岩岩屑获取实验所用菌株, 经基因组测序分析对菌株进行鉴定, 建立邻菲罗啉法 Fe(II) 浓度标准曲线测定菌株的 Fe(III) 还原能力, 通过扫描电镜(scanning electron microscopy, SEM)、透射电镜(transmission electron microscopy, TEM)、Zeta 电位分析对菌株与赤铁矿(Fe_2O_3)作用产纳米颗粒形态与粒径进行表征, 通过油/水/岩界面动态润湿角测定与油滴剥离及运移实验对微生物产纳米进行驱油性能分析, 最后探究微生物产纳米颗粒提高原油采收率的能力。【结果】经鉴定分离的菌株为吉尔卡湖希瓦氏菌(*Shewanella chilikensis*), 编号为 FR1; 菌株 FR1 能使赤铁矿(Fe_2O_3)快速还原, 铁还原率达到 65.26%; 与赤铁矿(Fe_2O_3)作用 10 d 经显微电镜观察显示: 在细菌细胞壁上、细胞内部及细菌蚕食的赤铁矿表面都附着大量的球状纳米颗粒; 通过粒径分析表明未接菌的空白对照粒径>1 000 nm 的颗粒含量达到 88.05%, 接菌后主要转化为尺寸在 10–1 000 nm 的纳米级颗粒; 这些纳米颗粒作用于原油和岩石界面能明显改变油润湿界面的润湿性, 并且对固体界面上的原油进行有效剥离; 通过 FR1 原位产生的纳米流进行岩心驱替, 排出液水相表面张力下降到 27.9–28.6 mN/m, 提高原油采收率为 16.38%–17.76%。【结论】研究结果为微生物提高原油采收率提供了一种新的技术思路。**关键词:** 微生物原位产纳米活性; 铁还原细菌; 希瓦氏菌属; 微生物提高原油采收率

资助项目: 国家自然科学基金(52474053, 51774257); 中国地质大学(北京)大学生创新创业训练计划(202411415054)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (52474053, 51774257), and the Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students of China University of Geosciences (Beijing) (202411415054).

*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Fan, fanzhang@cugb.edu.cn; WEI Shiping, weishiping@cugb.edu.cn

Received: 2024-07-29; Accepted: 2024-10-27; Published online: 2024-11-28

Iron nano-particles produced by microorganisms *in situ* enhance oil recovery

CHEN Jingwen¹, GUO Hao¹, WANG Xinlu¹, JIANG Yikun¹, LIU Jingjing¹, ZHANG Fan^{*1}, DENG Shuyuan¹, WANG Bo¹, WEI Shiping^{*2}

¹ School of Energy Resources, China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China

² School of Marine Sciences, China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China

Abstract: [Background] Nano-particles produced by microorganisms *in situ* can enhance oil recovery. [Objective] To study the effects of iron nano-particles produced by microorganisms *in situ* on oil recovery by combining microbial production of nanoparticles with the technology of nano-fluids enhancing oil recovery. [Methods] We isolated the strains from shale rock debris and identified the strains by genome sequencing. Subsequently, we established the standard curve of Fe(II) concentration by the *o*-phenanthroline method to determine the Fe(III) reduction ability of the strain, and characterized the morphology and particle size of nano-particles produced by strain interaction with hematite (Fe₂O₃) by scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, and Zeta potential analysis. Finally, we investigated the ability of the nano-particles to enhance oil recovery by determining the dynamic wetting angle at oil/water/rock interface and conducting oil droplet stripping and transport experiments. [Results] The isolated strain was identified as *Shewanella chilikensis* FR1. FR1 could rapidly reduce Fe₂O₃, with the iron reduction rate reaching 65.26%. After the strain was interacted with Fe₂O₃ for 10 days, a large number of spherical nano-particles were observed on the surface of hematite on the bacterial cell walls, inside of the cells, and eaten by bacteria. The particles with the size >1 000 nm accounted for 88.05% in the blank control without strain inoculation, and those in the bacterial inoculation group mainly had the size of 10–1 000 nm. The nanoparticles in the oil-rock interface could obviously change the wettability of oil-wetted interfaces and effectively strip crude oil on the solid interface. The nano-particles generated by FR1 *in situ* could be used for core flooding, decreasing the surface tension of the aqueous phase of the discharged fluid to 27.9–28.6 mN/m and increasing the oil recovery to 16.38%–17.76%. [Conclusion] The results of this study provide a new technical idea for microbial enhanced oil recovery (MEOR).

Keywords: *in-situ* production of nano-particles by microorganisms; iron-reducing bacteria; *Shewanella*; microbial enhanced oil recovery

石油经过一次采油和二次采油后,其地层中还存在大量残留的石油无法开采^[1-3]。近年来,国内外对提高油气采收率(enhanced oil recovery, EOR)做了大量研究^[4-5],其中的化学驱是三次采油的关键技术。在可持续经济绿色发展的号召下,传统化学试剂由于存在难降解特

性及高污染风险等问题,亟待新型绿色化学驱替技术的研发与应用。微生物提高原油采收率(microbial enhanced oil recovery, MEOR)是继一次采油和二次采油之后,集石油地质学、微生物学及生物化学等多学科交叉形成的一项三次采油技术^[6-8]。微生物原位提高原油采收率

是通过向地层注入微生物生存所需营养物, 激活地层中本源的微生物, 促使微生物在地层中大量繁殖与生长, 产生有助于原油采出的代谢产物, 从而达到提高原油采收率的目的^[9]。在传统的 MEOR 技术中, 常用的微生物代谢物是生物表面活性剂、生物聚合物、生物酸和气体等^[10-11]。随着微生物和纳米技术的发展, 微生物产纳米颗粒活性逐渐被揭示, Beveridge 等^[12]在室温下将细菌细胞暴露于 Au^{3+} 氯化物溶液中, 并观察到 Au 纳米颗粒的形成。Oves 等^[13]用嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) 的无细胞上清液合成 Ag 纳米颗粒。据报道, 微生物产纳米颗粒速度快、毒性低、尺寸可控、对生态友好^[14-15]。

纳米材料因其特有的纳米效应已成为提高油气采收率领域的高性能热点材料。纳米颗粒由于体积小, 易于进入储层中的微小孔隙, 并且不会堵塞地层降低渗透率。同时纳米颗粒能够有效降低油水界面张力, 提高洗油效率, 提高油井产量。据报道, Divandari 等^[16]研制柠檬酸包覆磁铁矿纳米颗粒, 采收率提高 22%。丁小惠等^[17]制备了一种纳米乳液驱油剂, 可使驱油率提高 30%。

基于 MEOR 技术特点, 本研究将微生物产纳米活性与纳米驱油技术相结合, 形成低成本、高经济效益的新型微生物原位产纳米的 MEOR 技术, 以期 MEOR 技术的发展提供新思路并奠定实践基础。

1 材料与方法

1.1 样品

本研究使用的菌株取自涪陵页岩气田油井的页岩岩屑样品, 取样层位于 2 123.5 m; 样品为黑色碎屑泥状, 其中有明显岩状颗粒, 直径

分布范围为 0.5–1.5 cm, 其中岩状固体颗粒含量 62.7%、油含量 4.8%、泥质含量 28.6%、其他成分 3.9%。岩屑样品无菌厌氧封装回实验室, $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

异化铁还原菌富集培养基(g/L): 葡萄糖 2.0, 氯化钠 15.0, 乳酸钠 2.0, 酵母粉 1.0, 柠檬酸铁 2.5, 微量元素溶液 14 mL, 维生素溶液 10 mL, L-3 半胱氨酸盐 1.0。

氨水、柠檬酸、硝酸银、乙酸、氯化钠、氯化镁、硫酸钠、氯化铁和碳酸氢钠, 国药化学试剂有限公司; 无水乙醇, 天津凯通化学试剂有限公司; 氯化钙, 莱阳市康德化工有限公司; 细菌 DNA 提取试剂盒, 武汉华美生物工程有限公司。恒温振荡培养箱, 上海齐欣科学仪器有限公司; 高速离心机, 湖南湘仪离心机有限公司; 扫描电镜(scanning electron microscopy, SEM), 泰思肯贸易(上海)有限公司; 透射电镜(transmission electron microscopy, TEM), 电子公司; Zeta 电位分析仪, 上海思百吉仪器系统有限公司; 全自动表面张力仪, 承德市科承试验机有限公司; 接触角测试仪, 北斗仪器仪表重庆有限公司; 岩心驱替装置, 江苏珂地石油仪器有限公司; 超声液体处理机, 宁波新芝生物科技有限公司。

1.3 实验用岩心、原油、模拟地层水的制备

为了模拟含赤铁矿储层, 制备人造岩心过程中, 在黏土矿物中加入质量分数 30% 的赤铁矿(Fe_2O_3)粉末(专业岩心定制公司制备)。为了验证微生物原位产纳米解堵驱油可行性与重复性, 做 3 组岩心平行驱替实验, 人造岩心具体参数测定数据见表 1。实验用油的密度为 0.817 g/mL, 模拟地层水的矿化度为 20 018 mg/L, 密度为 1.089 g/mL。

表 1 人造岩心参数

Table 1 Artificial core parameters

岩心 Core	黏土矿物+赤铁矿 (Fe ₂ O ₃)含量 Clay minerals+ hematite (Fe ₂ O ₃) (%)	岩心直径 Core diameter (cm)	岩心长度 Core length (cm)	渗透率 Permeability (mD)	孔隙度 Porosity (%)	孔隙体积 Pore volume (PV) (mL)	饱和原油体积 Saturated crude volume (mL)
Core 1	16.63	2.5	9	20.38	15.29	6.75	4.69
Core 2	16.63	2.5	9	19.65	15.82	6.99	4.86
Core 3	16.63	2.5	9	20.89	14.97	6.61	4.31

1.4 铁还原菌的富集、分离与鉴定

将页岩岩屑样品接种于异化铁还原菌富集培养基, 37 °C 静置培养 7 d, 按 10% 的接种量再次转接, 经过 5 轮的富集培养后进行细菌分离。

在厌氧操作箱中, 将上述富集培养物进行 10 倍的系列稀释, 稀释的菌液进行厌氧滚管法进行细菌的分离, 分离后在 37 °C 恒温箱静置培养 24 h, 待菌落长出后, 通过毛细管挑取单菌落, 扩大培养后接种到异化铁还原菌富集培养基中 37 °C、200 r/min 培养 4 d。

按照细菌 DNA 提取试剂盒提取菌株 DNA。以异化铁还原菌富集培养基菌株基因组 DNA 为模板, 使用通用引物 27F (5'-AGAGTTTG ATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGYTACC TTGTTACGACTT-3') 对菌株进行 16S rRNA 基因扩增。PCR 反应体系 (25 μL): ddH₂O 15.375 μL, 10×buffer 2.5 μL, dNTPs 2.0 μL, MgCl₂ 2.0 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 1.0 μL, 模板 1.0 μL, TaKaRa Taq™ (5 U/μL) 0.125 μL。PCR 反应条件: 94 °C 4 min; 94 °C 30 s, 55 °C 45 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 保存。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送上海派森诺生物科技股份有限公司测序, 从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 数据库中下载已知菌株的 16S rRNA 基因序列, 进行

BLAST 比对分析, 并利用 MEGA 7.0 软件的邻接法构建系统发育树。

1.5 微生物铁还原能力的测定

建立邻菲罗啉法 Fe(II) 浓度标准曲线, 以异化铁还原菌富集培养基柠檬酸铁的量来确定 Fe(III) 的初始浓度, 测定纯菌培养过程中不同培养时间培养液波长为 510 nm 时的吸光度值, 通过建立的标准曲线来计算铁还原菌生物作用后培养液中的 Fe(II) 浓度, 从而确定微生物的 Fe(III) 还原能力。

1.6 微生物产铁基纳米颗粒的鉴定及表征

1.6.1 扫描电镜

使用超高分辨率场发射 SEM 观察纳米颗粒的形态。

1.6.2 透射电镜

使用超声液体处理机, 超声条件: 20 kHz、600 W、脉冲模式, 处理待测样品 10 min 后将溶液滴在铜栅上, 并将栅格风干, 最后在 TEM 下于 50 nm 波长处显影后观察。

1.6.3 粒径与 Zeta 电位测试

样品收集: 在厌氧操作箱中摇匀接入菌株 FR1 赤铁矿 (Fe₂O₃) 培养液和含原始赤铁矿颗粒 (空白对照) 培养液, 用移液枪吸取 3 mL 培养物于灭菌的离心管中, 盖住管盖。样品粒度分布测试: 将离心管从厌氧操作箱中拿出移至粒度

仪测试实验室, 摇匀离心管中样品, 吸取 1 mL 样品到测试皿中, 利用 Zeta 电位分析仪分析, 以含原始赤铁矿颗粒培养液为对照, 分析细菌作用赤铁矿后培养液中固体颗粒粒度分布。

1.7 微生物产纳米驱油性能分析

1.7.1 油/水/岩界面动态润湿角测定

使用 50 g 的 P13 原油(胜利油田 P13 井原油)与 100 g 的柴油混合配制实验用油, 将玻璃片浸泡于 P13 原油中, 65 °C 老化 7 d, 制备得到油润湿老化玻璃片, 利用接触角测试仪测定油润湿老化玻璃片在不同液相中油-水-岩界面接触角随时间的变化。

1.7.2 油滴剥离及运移特征实验

将内径为 500 μm 的玻璃毛细管插入染色后的正十六烷中, 通过毛细管上升法使毛细管中填充十六烷, 将填充正十六烷的毛细管放置在显微镜下, 通过与显微镜连接的电脑记录此时十六烷在毛细管中的存在形态。利用模拟地层水对十六烷进行置换, 记录十六烷在毛细管中运移及在管壁上的残存形态, 然后用菌株 FR1 与赤铁矿(Fe_2O_3) 10 d 的培养物进行二次驱替置换, 对微生物产纳米培养液置换后的十六烷薄膜的运移过程进行拍照记录, 分析微生物产纳米颗粒在优势通道油膜剥离及运移的特点。

1.8 微生物原位产纳米提高采收率岩心驱替模拟实验

1.8.1 连接岩心驱替实验装置

在相应的中间容器中加入处理好的实验用油、配制的模拟地层水, 检查装置密封性及各仪器工作稳定性。设定恒温箱温度为 37 °C。

1.8.2 第 1 次地层水驱

岩心饱和原油后的体积为 V_0 , 启动平流泵,

打开模拟地层水中间容器对应的阀门, 以注入流速为 0.3 mL/min 开始模拟地层水驱。收集产出油水混合物, 直到驱替产出液中含水 98%, 停止地层水驱替, 记录此时驱替出的原油体积 V_s 。

1.8.3 微生物原位产纳米

启动平流泵, 打开装有 FR1 菌株活化液与激活液中间容器的对应阀门, 以流速为 0.1 mL/min 注入 2 PV 对应的流体。关闭所有闸阀, 以岩心在夹持器中的环境模拟微生物生长的地层环境, 恒定温度 37 °C, 培养 7 d。

1.8.4 第 2 次地层水驱

微生物原位产纳米 7 d 后进行第 2 次地层水驱。启动平流泵, 打开模拟地层水中间容器对应的阀门, 以流速为 0.3 mL/min 开始第 2 次模拟地层水驱。收集产出油水混合物, 直到驱替产出液中含水 98%, 停止地层水驱替, 记录此时驱替出的原油体积 V_{NP} 。测定排出液水相表面张力。根据采集的油相体积, 计算采收率数值。

第 1 次水驱采收率计算公式为:

$$E_{RS} = \frac{V_s}{V_0} \times 100\% \quad (1)$$

微生物产纳米采收率计算公式为:

$$E_{RNP} = \frac{V_{NP}}{V_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: V_0 为饱和原油体积; V_s 为第 1 次地层水驱替出的原油体积; V_{NP} 为微生物原位产纳米后第 2 次地层水驱替出的原油体积。

2 结果与分析

2.1 异化铁还原细菌的分离与鉴定结果

从涪陵页岩气田的页岩岩屑样品中富集培养分离出 1 株潜在的异化铁还原细菌, 编号为

FR1。在 SEM 微观视野下观察菌株 FR1 形态特征(图 1), 该细菌为杆状, 细胞长约 1.5 μm 、宽约 0.3 μm , 细胞无鞭毛(图 1A、1B)。将纯菌 FR1 的 16S rRNA 基因序列与 NCBI 数据库进行比对, 结果显示, 菌株 FR1 与吉尔卡湖希瓦氏菌(*Shewanella chilikensis*) strain SSP416 相似性最高为 100% (图 2)。因此, 鉴定菌株 FR1 为吉尔卡湖希瓦氏菌(*Shewanella chilikensis*)。

2.2 菌株 FR1 对赤铁矿(Fe_2O_3)的生物作用特征

2.2.1 菌株 FR1 对 Fe(III)的还原

菌株 FR1 对赤铁矿(Fe_2O_3)的还原动态见图 3, 未接菌的培养基中, Fe(II)的浓度为 0; 而随着时间的延长, 接种菌株 FR1 的培养基中 Fe(II)的浓度逐渐增加, 在培养前期, 菌株 FR1 对 Fe(III)的还原速度较快, 当培养 6 d 时, 培养液

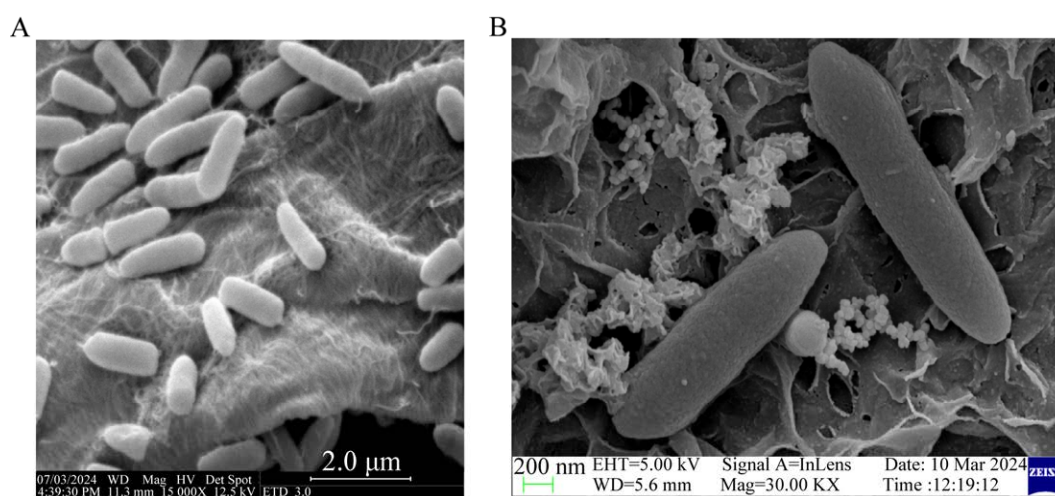


图 1 菌株 FR1 在扫描电镜下的细胞形态 A: 菌落 FR1 分布状态; B: 纯菌 FR1 细胞形态。

Figure 1 Cell morphology of strain FR1 under scanning electron microscopy. A: Distribution status of strain FR1; B: Pure bacterial FR1 cell morphology.

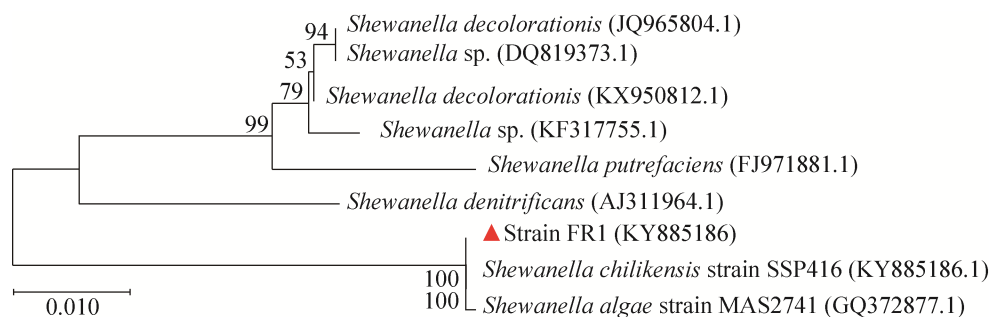


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 FR1 的系统发育树 分支点处数值为 bootstrap 的支持率; 括号内序号为相关菌株 GenBank 登录号; 标尺 0.010 为序列差异的分支长度。

Figure 2 Phylogenetic tree of strain FR1 constructed based on 16S rRNA gene sequence. Numbers at branch point represents the support rate of bootstrap; GenBank accession numbers are shown in parentheses; Scale 0.010 is the branch length of sequence differences.

中 Fe(II) 的浓度达到了 5.67 mmol/L; 在培养后期, 培养液中 Fe(II) 浓度增加缓慢, 当培养 8 d 时, 菌株 FR1 对赤铁矿(Fe_2O_3)中 Fe(III) 的还原率可达到 65.26%。因此证明菌株 FR1 对赤铁矿(Fe_2O_3)具有将 Fe(III) 还原为 Fe(II) 的能力^[18]。

2.2.2 菌株 FR1 与赤铁矿作用的微观特征

在 SEM 微观视野下观察微生物作用前后赤铁矿(Fe_2O_3)形貌及描述(图 4)。原始赤铁矿(实验室储存对照图片)尺寸不统一, 片状和块状居多, 棱角分明(图 4A); 菌株 FR1 作用 10 d 后的赤铁矿表面堆积细小的颗粒絮状物质, 有片状赤铁矿边缘出现钝化(图 4B), 棱角分明度降低,

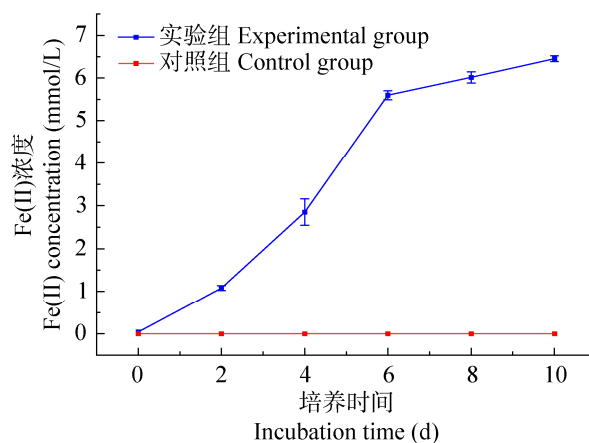


图 3 FR1 对赤铁矿(Fe_2O_3)的还原动态
Figure 3 Reduction dynamics of hematite (Fe_2O_3) by FR1.

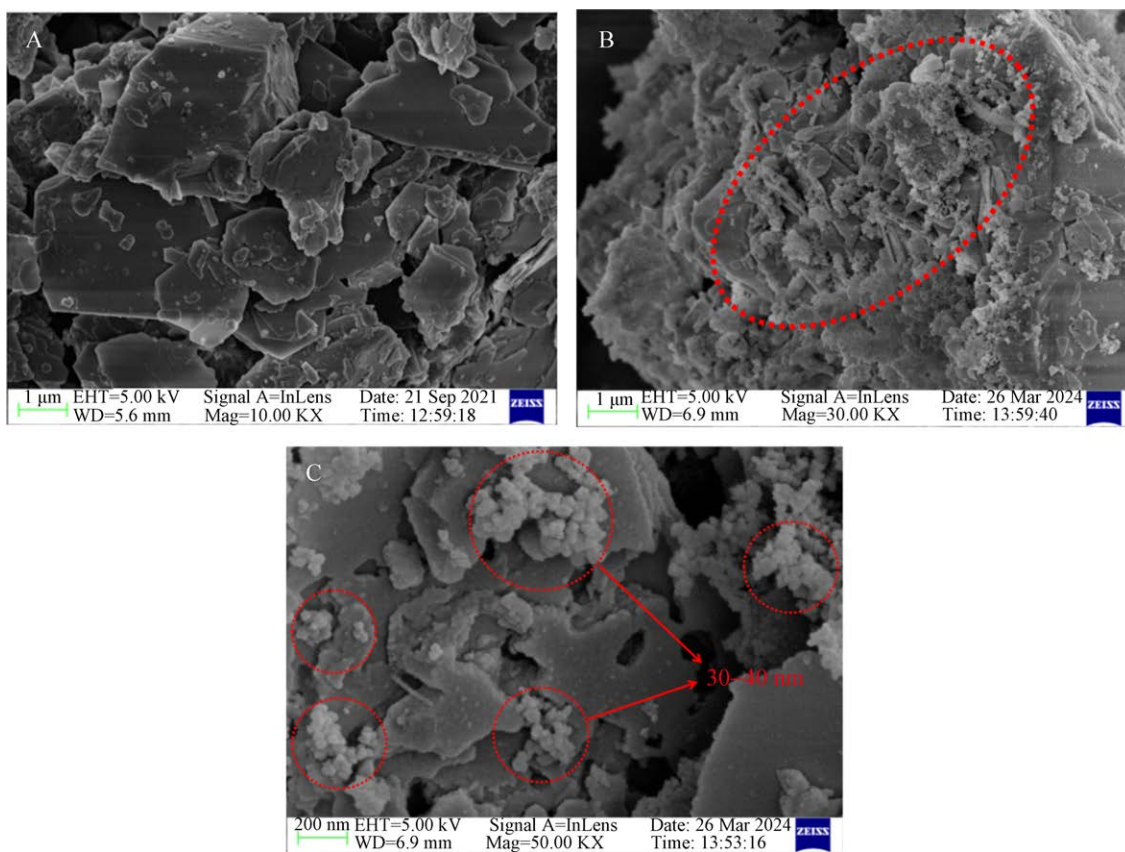


图 4 不同时间菌株 FR1 赤铁矿(Fe_2O_3)培养微观状态 A: 棱角状赤铁矿(Fe_2O_3); B: 10 d 絮状赤铁矿(Fe_2O_3); C: 10 d 球形纳米颗粒。

Figure 4 Microstate of strain FR1 hematite (Fe_2O_3) culture at different times. A: Angular hematite (Fe_2O_3); B: 10 days flocculated hematite (Fe_2O_3); C: 10 days spherical nanoparticles.

推测菌株 FR1 对赤铁矿有生物作用，将其边缘一点点吞食，改变其形貌。菌株 FR1 作用 10 d 后的赤铁矿表面附着大量极细小的 30–40 nm 左右粒径的纳米球颗粒，片状矿物边缘出现凹凸不平的蚕食，矿物中间也出现孔洞蚕食现象(图 4C)。

采用 TEM 对细菌细胞横切进行观察(图 5)，发现菌体切割后的截面有变形(皱缩)(图 5A)，也有饱满的圆形(图 5B)。菌体细胞壁膜都附着有大量 5–20 nm 粒径的灰黑色颗粒物，同时也有大粒径的 150 nm 左右团块横跨细胞膜进入内部，细菌体内纳米粒子普遍分散且粒径较小，聚集程度越高，纳米颗粒形成的区块颜色越深，细胞壁外部也分布有 40–50 nm 左右的颗粒团。

微观结果表明 FR1 在菌内和菌外同时产生 5–150 nm 的颗粒，实验结果表明细胞的生物作用产纳米，产纳米的机制有胞外和胞内产纳米 2 种，关于详细的生物代谢转化产纳米机制的研究还需要更为深入的揭示^[19–20]。

2.2.3 菌株 FR1 产生的纳米颗粒粒径

FR1 形成的纳米颗粒粒径分布(表 2，图 6)。未接菌株 FR1 赤铁矿(Fe₂O₃)培养液中(空白对照样品表 2，图 6A)，固体颗粒粒径分布范围较窄，颗粒粒径主要为 1 500–2 700 nm，粒径>1 000 nm 的颗粒含量达到 88.05%，对照样品中也存在一定量的粒径<100 nm 的颗粒，占比为 10.94%，这部分颗粒主要的来源可能是研磨过程中产生的小颗粒粉末。而接入菌株 FR1 的实验组(表 2，

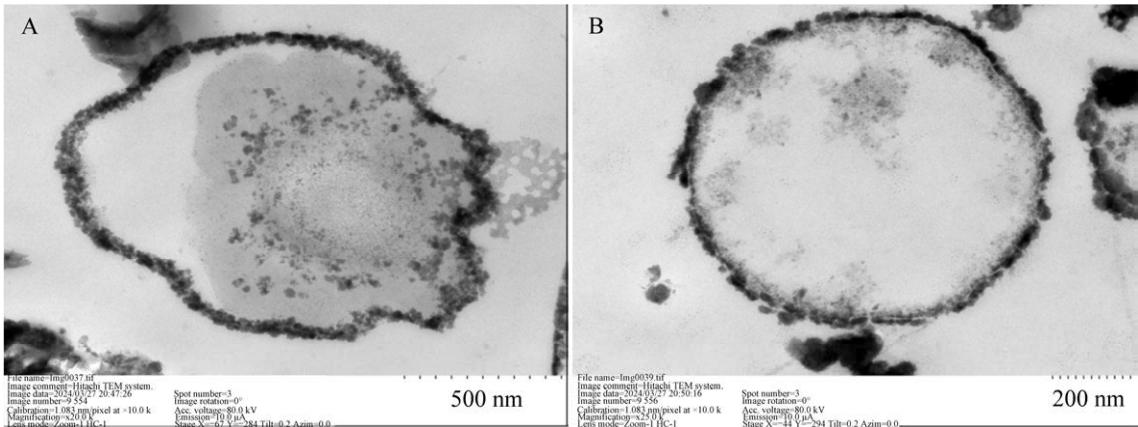


图 5 菌株 FR1 细胞的透射电镜观察 A：变形的细胞横切面；B：饱满的细胞横切面。
Figure 5 Observation of strain FR1 cells by transmission electron microscopy. A: Transverse section of a deformed cell; B: Transverse section of a full-bodied cell.

图 6B)，经细菌作用 10 d 后，其矿物颗粒粒径明显变小，粒径小于 100 nm 的颗粒占 50.73%，粒径为 100–1 000 nm 中等颗粒占 43.75%，而大于 1 000 nm 的颗粒明显减少，只占了 5.69%。粒径分布结果表明，菌株 FR1 将赤铁矿(Fe₂O₃)主要转化为尺寸为 10–1 000 nm 的纳米级颗粒。

表 2 不同培养中粒径分布统计分析		
Table 2 Statistical analysis of particle size distribution in different cultures		
粒径 Particle size (nm)	空白对照占比 Proportion of blank control (%)	菌株 FR1 作用后占比 Proportion after strain FR1 effect (%)
<100	10.94	50.73
100–1 000	1.01	43.75
>1 000	88.05	5.52

2.3 菌株 FR1 产纳米驱油作用表征

2.3.1 菌株 FR1 产纳米颗粒改变岩石润湿性

不同接触时间对应不同液相/油/岩接触角(图 7)。油润湿的玻璃片经模拟地层水处理后放入样品池中(图 7A), 样品池中的液相为模拟地层水, 用注射器在玻璃片下表面加入实验用油

后, 测定结果表明实验用油与油润湿玻璃片的接触稳定后接触角为 152° (图 7B), 此时油/水/岩界面润湿性属于油湿。

油润湿的玻璃片经微生物产纳米培养液(FR1 与赤铁矿作用 10 d)处理后放入样品池中(图 7A), 当样品池中的液相为原始含赤铁矿颗

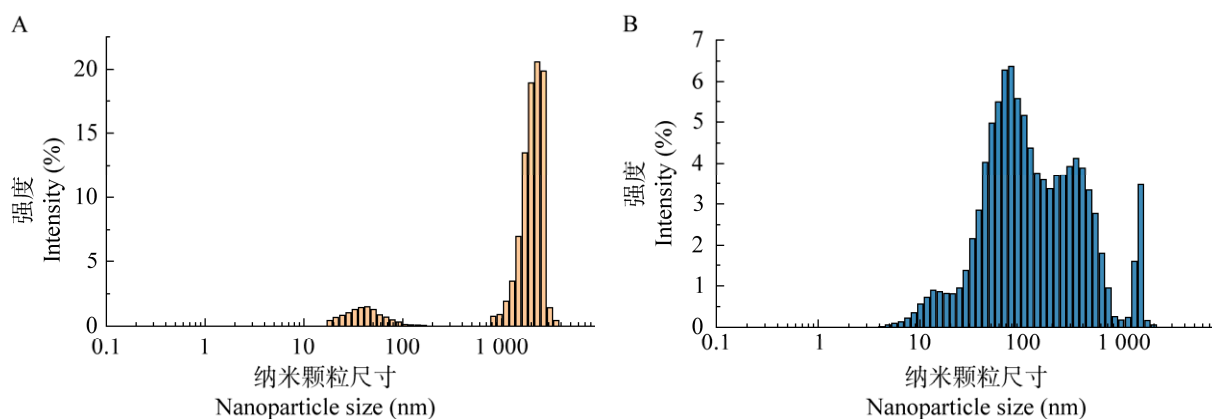


图 6 FR1 形成的纳米颗粒粒径分布 A: 空白对照组; B: 接入菌株的实验组。

Figure 6 Particle size distribution of nanoparticles formed by FR1. A: Blank control group; B: Experimental group with access strains.

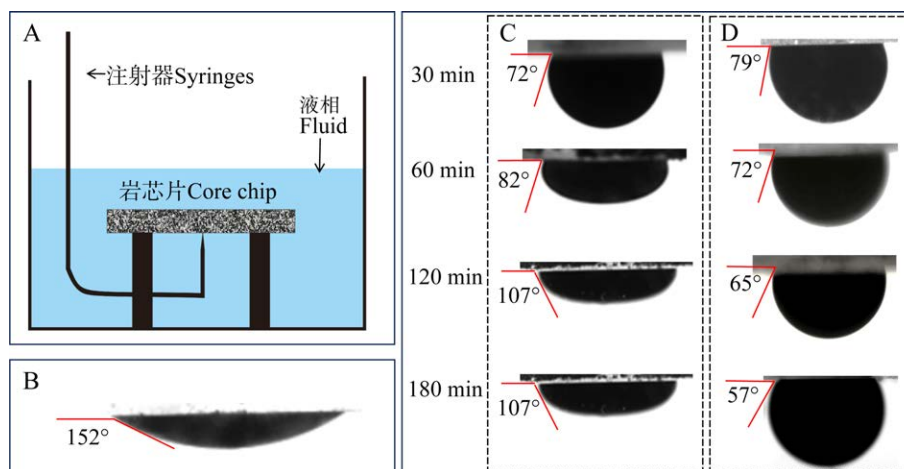


图 7 不同接触时间对应不同液相/油/岩接触角 A: 样品池; B: 液相为模拟地层水的接触角; C: 液相为原始含赤铁矿颗粒培养液接触角; D: 液相为微生物产纳米培养液接触角。

Figure 7 Different contact times correspond to different liquid phase/oil/rock contact angles. A: Cuvette; B: Contact angle of liquid phase with simulated formation water; C: Contact angle of the liquid phase as the original hematite particle-containing culture fluid; D: Contact angle of microbial nanoparticle-producing culture fluid.

粒培养液时,测得 30、60、120 和 180 min 后油与玻璃片的接触角分别为 72° 、 82° 、 107° 和 107° (图 7C),说明油/水/岩界面的润湿性逐渐由水湿转变为油湿,未接菌的赤铁矿颗粒并未改变油/水/岩界面的润湿性;当样品池中的液相为微生物产纳米培养液时,测得 30、60、120 和 180 min 后油与玻璃片的接触角分别为 79° 、 72° 、 65° 和 57° (图 7D),说明菌株 FR1 产生的纳米颗粒有效地降低了油润湿界面油滴结构分离压力^[21],随着界面由油湿逐渐转变为水湿,使油滴从界面进行有效剥离。

润湿性角的降低是因为菌株 FR1 产纳米颗粒在三相交界处排列成有序的层序结构(图 8),以楔形膜的形式降低油润湿界面油滴结构分离压力^[22-23],使得油滴从油润湿界面逐渐剥离,改变油润湿玻璃片对油的润湿性。

2.3.2 菌株 FR1 产纳米颗粒油膜剥离运移特征

显微镜下观察了原油在毛细管中运移及油膜剥离过程(图 9)。毛细管中的原油经水驱后,在毛细管壁上留下一层油膜;当加入菌株 FR1 产纳米颗粒培养液后,随着时间的推移,毛细管壁上的油膜厚度发生波动,变得不稳定并破裂,破裂后的油膜与驱替流体汇合,形成水包油的乳状液,油滴体积随时间增加而增大,并被微生物产纳米培养液携带到毛细管另一端并聚集在一起,随之毛细管壁上的油膜消失。表明微生物产纳米培养液能有效剥离固体界面原油,同时油膜剥离与运移过程形成油水乳状液段塞,该油水乳状液段塞可增大优势通道中渗流阻力,迫使后续液体转向次级通道,扩大波及范围^[24]。

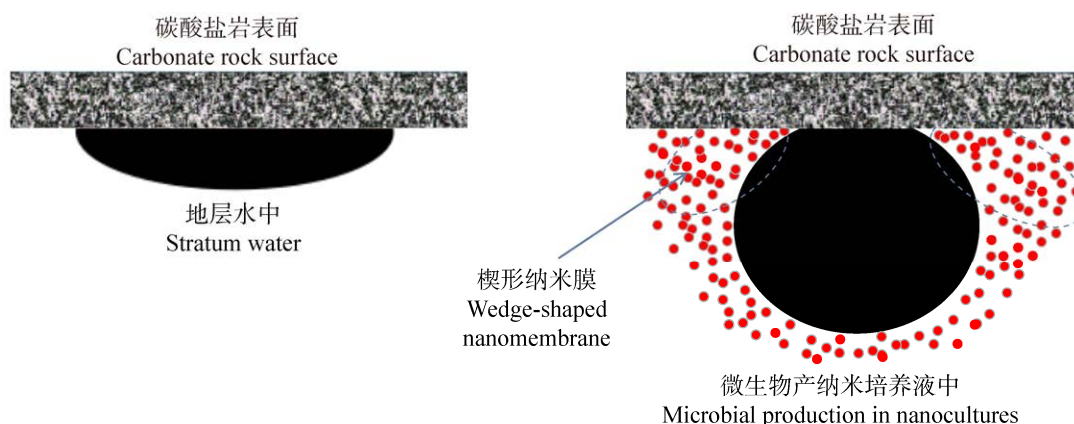


图 8 纳米形成楔形膜降低油滴结构分离压力示意图

Figure 8 Schematic diagram of reduced oil droplet structure separation pressure with nano-formed wedge film.

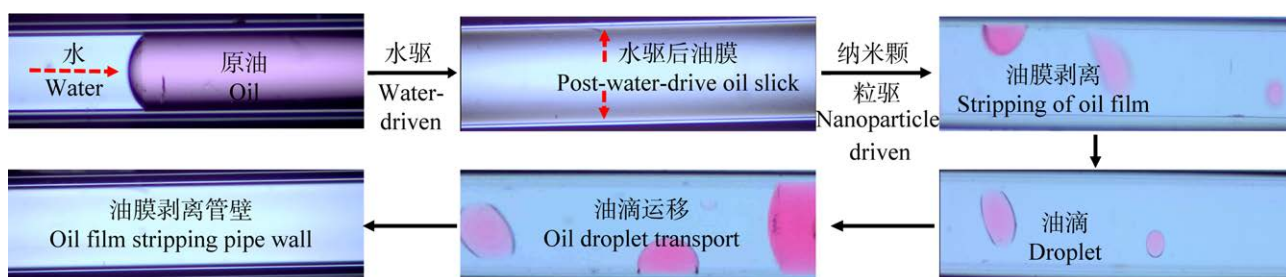


图 9 原油在毛细管内运移及油膜的剥离观察

Figure 9 Observation of crude oil transportation in capillary and stripping of oil film.

2.4 微生物原位产纳米岩心模拟驱油效果

岩心驱替实验及驱替产出液水相表面张力和原油采收率测定结果(表 3, 图 10)。连接驱替装置(图 10A)、岩心(图 10C)、饱和原油(图 10B)老化 7 d 后,第 1 次地层水驱替直到产出液中含水 98%, 停止地层水驱替, 一次水驱后(表 3, 图 10F), 排出液水相表面张力为 64.7–65.9 mN/m, 此时, 原

油的采收率为 39.97%–41.08%, 显微镜观察下发现油分散状态不佳, 成片状分布, 乳化不明显(图 10D)。随后, 菌株 FR1 产纳米培养液作为 3 次采油驱油剂注入岩心, 并关闭驱替装置培养 7 d。然后, 进行二次水驱直到驱替产出液中含水 98%, 停止地层水驱替。3 组岩心微生物原位产纳米后(表 3, 图 10F), 二次水驱排出液水相表

表 3 岩心驱替模拟过程原油采收率以及收集产出液的油水界面张力

Table 3 Crude oil recovery and the oil-water interfacial tension of the collected output fluid during core replacement simulation

岩心 Core	第 1 次地层水驱 First water flooding		第 2 次地层水驱 Second water flooding	
	水相表面张力 Surface tension of aqueous phase (mN/m)	原油采收率 Crude oil recovery (%)	水相表面张力 Surface tension of aqueous phase (mN/m)	原油采收率 Crude oil recovery (%)
Core 1	65.6	41.08	28.3	16.38
Core 2	64.7	39.97	28.6	17.76
Core 3	65.9	40.65	27.9	16.89

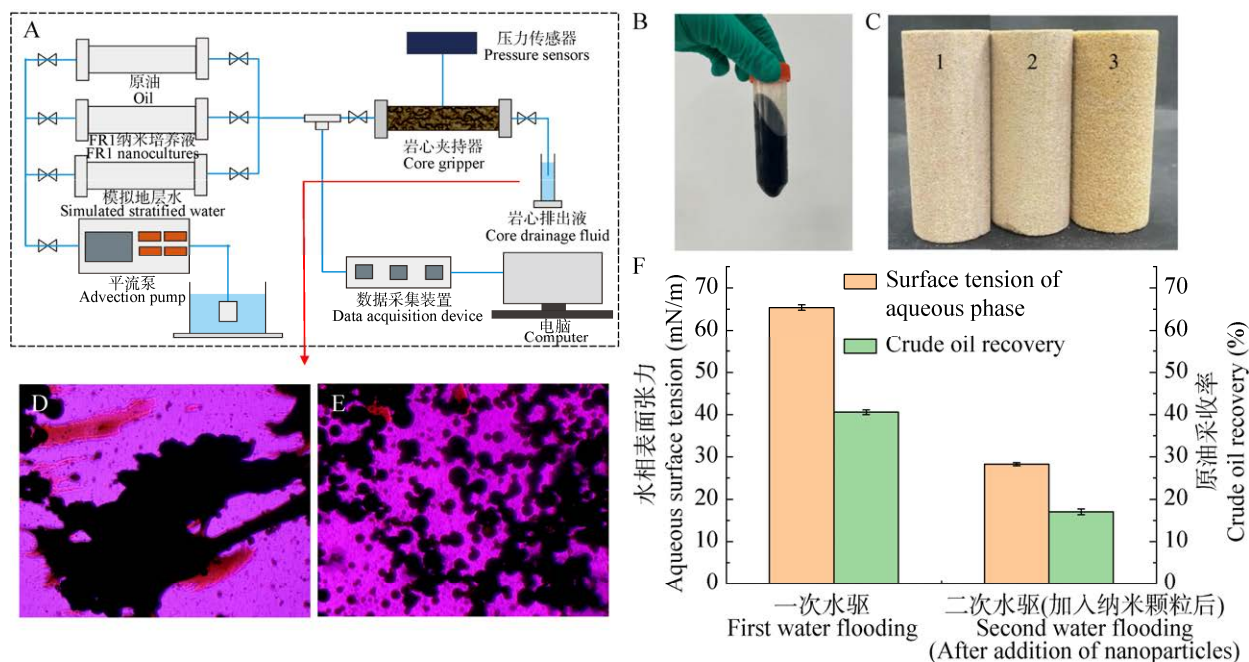


图 10 岩心驱替实验及驱替产出液水相表面张力和原油采收率测定 A: 岩心驱替装置; B: 实验原油; C: 三组岩心; D: 显微视野下第 1 次水驱原油; E: 微生物原位产纳米后二次水驱原油乳化状态; F: 一次水驱和二次水驱(加入纳米颗粒后)水相表面张力及原油采收率。

Figure 10 Core replacement experiment and determination of surface tension and crude oil recovery in the aqueous phase of replacement producing fluid. A: Core replacement device; B: Experimental crude oil; C: Three sets of cores; D: First water-driven crude oil under microscopic view; E: Emulsified state of second water-driven crude oil after nano-microbial *in-situ* generator; F: Surface tension of aqueous phase and crude oil recovery in primary and secondary water drives (after adding nanoparticles).

面张力下降到 27.9–28.6 mN/m, 提高采收率为 16.38%–17.76%, 总回收率达到 56.35%–58.84%, 显微镜下观察发现油呈现明显的水包油乳化状态, 形成油珠状分散(图 10E)。可见生物纳米与油相互作用, 能有效降低表面张力, 使油乳化分散, 从而达到提高原油采收率目的。

3 讨论

本研究使用的是吉尔卡湖希瓦氏菌(*Shewanella chilikensis*), 为希瓦氏菌属。希瓦氏菌属(*Shewanella*)主要分布于深海环境, 属于嗜温、嗜压兼性厌氧异化铁还原菌。目前, 一些研究报道了从石油储层中分离的异化铁还原菌^[25–26], 张涵等^[27]从西北某低渗透油田分离的铁还原菌生长温度范围为 25–45 °C, 最适 pH 生长范围为 6.0–8.0。本研究使用的菌株取自涪陵页岩气田油井的页岩岩屑样品, 油含量 4.8%。在油藏平均温度条件下(37 °C), 通过岩心驱替实验表明, 从石油储层分离的异化铁还原菌产纳米能够提高原油采收率, 说明本研究分离出的微生物不仅能够适应油藏环境, 而且拓宽和推动 MEOR 技术的发展, 后期我们也将继续开展微生物产纳米油藏适应性范围的研究。

分离出的铁还原功能菌株 FR1 对 Fe(III)的还原率可达到 65.26%, 确定 FR1 对赤铁矿(Fe_2O_3)具有还原作用, 可将 Fe(III)还原为 Fe(II), 同时可将棱角状赤铁矿(Fe_2O_3)转变为球形纳米颗粒; 球形纳米颗粒尺寸主要在 10–1 000 nm 间, 并且在 100 nm 左右更为集中; 不仅是希瓦氏菌可产生纳米铁颗粒, 据报道 Crespo 等^[28]利用大肠杆菌(*Escherichia coli*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)细胞提取物在 pH 值为 6.5 的 1 mmol/L FeSO_4 上孵育时, 可促进球形磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒的合, Fatemi 等^[29]利用蜡芽芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)无细胞上清液将

Fe 还原为 18–29 nm 大小范围内的球形磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒。铁是生物体不可缺少的元素, 主要作为重要生物氧化还原反应的辅助因子, 纳米颗粒形式的铁在作为造影剂、药物载体和癌症治疗方面等具有广泛的应用^[30]。铁磁流体是一类特殊的智能纳米材料, 据报道, 铁磁流体具有独特的流动性和与磁场相互作用的能力, 易于降低界面张力, 减少对流动的阻力^[31]。铁磁纳米流体在油田用于提高原油采收率的研究逐步推进。本研究仅从铁的价态转变去分析, 对于赤铁矿(Fe_2O_3)的矿物颗粒转化和铁磁性还需要进一步分析。

在油田开发过程中, 地层含有大量的含铁矿物如铁白云石、铁方解石等, 这些矿物易造成储层伤害^[32–33], 降低原油采收。微生物原位产铁基纳米可有效利用地层中的含铁矿物进行解堵, 并对孔隙结构有改善作用, 相比于直接向地层注入复合研磨的纳米分散液, 同时产生的纳米颗粒可在地层中均匀分布。因此微生物原位产铁基纳米颗粒拓展了传统微生物采油技术涉及的微生物可用活性。尽管这种新方法具有一些新颖性, 但值得进一步研究以优化效果, 如: 挑选高效率的纳米粒子生产菌株, 增强纳米粒子生产活性, 该活性的研究与合理利用将推动微生物提高油气采收率的发展。

关于本研究的实际应用价值, 虽然目前野外试验利用铁还原微生物原位产纳米颗粒用于提高采收率的报道很少, 但是据目前微生物采油矿场实践的相关报道, 微生物采油技术具有见效慢、增产幅度小, 但经济效益好的特征。扶余油田为不影响井组原油生产任务, 选择日产油 <1 t、含水 >85% 的低产低效井, 将菌与糖蜜一起注入到井筒, 关井 10–20 d 实施作业, 扣除关井期间耽误的产量, 开井正常生产后平均单井增油 74 t, 投入产出比大于 1:2^[34]。Hou

等^[35]对大庆朝阳沟低渗透油田进行微生物驱的应用,发现实施微生物驱油后,10口油井中有7口见效明显,含水率下降,试验区日产液油50.7 t。Town等^[36]在加拿大萨斯喀彻温省南部地区的高含水油田注入营养物激发油层中微生物菌种,进行微生物驱后发现试验井含水率下降10%、石油产量1年内平均提高200%。鉴于本研究提供的思路,对于成本方面涉及的微生物富集培养等工艺与传统微生物采油技术相近,而且本实验提高采收率为16.38%–17.76%,与微生物采油理论上提高原油采收的10%–15%相近,因此我们预测本研究的矿场应用也可以具有良好的经济效益。在高含水或近枯竭的低渗透油田的应用中可以产生显著的效果。

4 结论

本研究从页岩样品中分离出潜在的异化铁还原菌株,编号为FR1;经16S rRNA基因测序与NCBI数据库进行比对,确定菌株FR1为吉尔卡湖希瓦氏菌(*Shewanella chilikensis*);建立邻菲罗啉法Fe(II)浓度标准曲线测定菌株的Fe(III)还原能力,FR1对Fe(III)的还原率可达到65.26%,确定菌株FR1对赤铁矿(Fe_2O_3)具有铁还原作用;通过SEM及TEM对生物产铁纳米颗粒进行形态表征,表明菌株FR1可将棱角状赤铁矿(Fe_2O_3)转变为球形纳米颗粒;经Zeta电位测试,球形纳米颗粒尺寸主要在10–1 000 nm间,并且在100 nm左右更为集中;对生物产纳米培养液(FR1与赤铁矿作用10 d)的油/水/岩界面动态润湿角测定,测得30、60、120和180 min后油与玻璃片的接触角分别为79°、72°、65°和57°,表明生物产生的纳米颗粒有效地降低了油润湿界面油滴结构分离压力,使油滴从界面进行有效剥离;菌株FR1原位产生的纳米流进行岩心驱替,排出液水相表面张力下降到

27.9–28.6 mN/m,提高原油采收率为16.38%–17.76%。表明研究结果作为一项三次采油技术能有效提高原油采收率,而且为MEOR提供了一种新的技术思路。

REFERENCES

- [1] YAKASAI F, JAAFAR MZ, BANDYOPADHYAY S, AGI A, SIDEK MA. Application of iron oxide nanoparticles in oil recovery: a critical review of the properties, formulation, recent advances and prospects[J]. Journal of Petroleum Science and Engineering, 2022, 208: 109438.
- [2] ZOU CN, YANG Z, ZHU RK, ZHANG GS, HOU LH, WU ST, TAO SZ, YUAN XJ, DONG DZ, WANG YM, WANG L, HUANG JL, WANG SF. Progress in China's unconventional oil & gas exploration and development and theoretical technologies[J]. Acta Geologica Sinica (English Edition), 2015, 89(3): 938-971.
- [3] SUN XF, ZHANG YY, CHEN GP, GAI ZY. Application of nanoparticles in enhanced oil recovery: a critical review of recent progress[J]. Energies, 2017, 10(3): 345.
- [4] LIU ZX, LIANG Y, WANG Q, GUO YJ, GAO M, WANG ZB, LIU WL. Status and progress of worldwide EOR field applications[J]. Journal of Petroleum Science and Engineering, 2020, 193: 107449.
- [5] OLAJIRE AA. Review of ASP EOR (alkaline surfactant polymer enhanced oil recovery) technology in the petroleum industry: prospects and challenges[J]. Energy, 2014, 77: 963-982.
- [6] 吴迪. 低渗透油田微生物代谢产物驱油技术研究[D]. 大庆: 东北石油大学硕士学位论文, 2017.
WU D. Study on oil displacement technology of microbial metabolites in low permeability oilfield[D]. Daqing: Master's Thesis of Northeast Petroleum University, 2017 (in Chinese).
- [7] 汪卫东. 微生物采油技术研究进展与发展趋势[J]. 油气地质与采收率, 2021, 28(2): 1-9.
WANG WD. Research advance and development trend in microbial enhanced oil recovery technology[J]. Petroleum Geology and Recovery Efficiency, 2021, 28(2): 1-9 (in Chinese).
- [8] NIENHAUS K, WANG H, NIENHAUS GU. Nanoparticles for biomedical applications: exploring and exploiting molecular interactions at the nano-bio interface[J]. Materials Today Advances, 2020, 5: 100036.
- [9] SARAVANAN A, KUMAR PS, VARDHAN KH, JEEVANANTHAM S, KARISHMA SB, YAASHIKAA PR, VELLAICHAMY P. A review on systematic approach for microbial enhanced oil recovery

- technologies: opportunities and challenges[J]. Journal of Cleaner Production, 2020, 258: 120777.
- [10] LAZAR I, PETRISOR IG, YEN TF. Microbial enhanced oil recovery (MEOR)[J]. Petroleum Science and Technology, 2007, 25(11): 1353-1366.
- [11] WANG XT, LIU B, LI XZ, LIN W, LI DA, DONG H, WANG L. Biosurfactants produced by novel facultative-halophilic *Bacillus* sp. XT-2 with biodegradation of long chain n-alkane and the application for enhancing waxy oil recovery[J]. Energy, 2022, 240: 122802.
- [12] BEVERIDGE TJ, MURRAY RG. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 1980, 141(2): 876-887.
- [13] OVES M, KHAN MS, ZAIDI A, AHMED AS, AHMED F, AHMAD E, SHERWANI A, OWAIS M, AZAM A. Antibacterial and cytotoxic efficacy of extracellular silver nanoparticles biofabricated from chromium reducing novel OS4 strain of *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59140.
- [14] PRASAD SR, TELI SB, GHOSH J, PRASAD NR, SHAIKH VS, NAZERUDDIN GM, AL-SEHEMI AG, PATEL I, SHAIKH YI. A review on bio-inspired synthesis of silver nanoparticles: their antimicrobial efficacy and toxicity[J]. Engineered Science, 2021, 16: 90-128.
- [15] KHALIL AT, OVAIS M, IQBAL J, ALI A, AYAZ M, ABBAS M, AHMAD I, DEVKOTA HP. Microbes-mediated synthesis strategies of metal nanoparticles and their potential role in cancer therapeutics[J]. Seminars in Cancer Biology, 2022, 86: 693-705.
- [16] DIVANDARI H, HEMMATI-SARAPARDEH A, SCHAFFIE M, RANJBAR M. Integrating synthesized citric acid-coated magnetite nanoparticles with magnetic fields for enhanced oil recovery: experimental study and mechanistic understanding[J]. Journal of Petroleum Science and Engineering, 2019, 174: 425-436.
- [17] 丁小惠, 周丹, 吴凯, 李栓, 贺勇, 余波, 陈丽. 纳米乳液渗吸驱油剂性能评价与应用[J]. 油田化学, 2022, 39(4): 651-657.
- DING XH, ZHOU D, WU K, LI S, HE Y, YU B, CHEN L. Performance evaluation and application of nanoemulsion imbibition oil-displacing agent[J]. Oilfield Chemistry, 2022, 39(4): 651-657 (in Chinese).
- [18] ESMAEILNEZHAD E, CHOI HJ, SCHAFFIE M, GHOLIZADEH M, RANJBAR M. Characteristics and applications of magnetized water as a green technology[J]. Journal of Cleaner Production, 2017, 161: 908-921.
- [19] MAJEED S, DANISH M, MOHAMAD IBRAHIM MN, SEKERI SH, ANSARI MT, NANDA A, AHMAD G. Bacteria mediated synthesis of iron oxide nanoparticles and their antibacterial, antioxidant, cytocompatibility properties[J]. Journal of Cluster Science, 2021, 32(4): 1083-1094.
- [20] ALI A, AASIM M, KÜBRA Ç, NADEEM MA, BALOCH FS. Frontiers in bacterial-based green synthesized nanoparticles (NPs): a sustainable strategy for combating infectious plant pathogens[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2024, 60: 103293.
- [21] KAZEMZADEH Y, DEHDARI B, ETEMADAN Z, RIAZI M, SHARIFI M. Experimental investigation into Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticle performance and comparison with other nanofluids in enhanced oil recovery[J]. Petroleum Science, 2019, 16(3): 578-590.
- [22] REZVANI H, KAZEMZADEH Y, SHARIFI M, RIAZI M, SHOJAEI S. A new insight into Fe₃O₄-based nanocomposites for adsorption of asphaltene at the oil/water interface: an experimental interfacial study[J]. Journal of Petroleum Science and Engineering, 2019, 177: 786-797.
- [23] WASAN DT, NIKOLOV AD. Spreading of nanofluids on solids[J]. Nature, 2003, 423(6936): 156-159.
- [24] JIA LL, ZHONG LG, LI SH, LIU YH, HU CH, WANG GD, GONG YN, SHANG C, ZHANG XC, HAN YT, LI J. Study of the liquid resistance effect of water-in-oil emulsions in porous media[J]. Petroleum Science, 2024, 21(6): 4165-4175.
- [25] GREENE AC, PATEL BK, SHEEHY AJ. *Deferribacter thermophilus* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic manganese- and iron-reducing bacterium isolated from a petroleum reservoir[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1997, 47(2): 505-509.
- [26] CUI K, SUN SS, XIAO M, LIU TJ, XU QS, DONG HH, WANG D, GONG YJ, SHA T, HOU JR, ZHANG ZZ, FU PC. Microbial mineralization of montmorillonite in low-permeability oil reservoirs for microbial enhanced oil recovery[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(14): e00176-18.
- [27] 张涵, 孙珊珊, 董浩, 承磊, 余跃惠. 铁还原菌降解石油烃的研究进展[J]. 微生物学报, 2020, 60(6): 1246-1258.
- ZHANG H, SUN SS, DONG H, CHENG L, SHE YH. Degradation of petroleum hydrocarbons by using iron-reducing bacteria[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(6): 1246-1258 (in Chinese).
- [28] CRESPO KA, BARONETTI JL, QUINTEROS MA, PÁEZ PL, PARAJE MG. Intra- and extracellular biosynthesis and characterization of iron nanoparticles from prokaryotic microorganisms with anticoagulant activity[J]. Pharmaceutical Research, 2017, 34(3):

- 591-598.
- [29] FATEMI M, MOLLANIA N, MOMENI-MOGHADDAM M, SADEGHIFAR F. Extracellular biosynthesis of magnetic iron oxide nanoparticles by *Bacillus cereus* strain HMH1: characterization and *in vitro* cytotoxicity analysis on MCF-7 and 3T3 cell lines[J]. Journal of Biotechnology, 2018, 270: 1-11.
- [30] SAMUEL MS, DATTA S, CHANDRASEKAR N, BALAJI R, SELVARAJAN E, VUPPALA S. Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using *Enterococcus faecalis*: adsorption of hexavalent chromium from aqueous solution and *in vitro* cytotoxicity analysis[J]. Nanomaterials, 2021, 11(12): 3290.
- [31] ANU K, HEMALATHA J. Viscosity studies of water based magnetite nanofluids[C]//Dae Solid State Physics Symposium 2015, Uttar Pradesh, India, 2016, 1731(1): 050148.
- [32] PE-PIPER G, WEIR-MURPHY S. Early diagenesis of inner-shelf phosphorite and iron-silicate minerals, lower cretaceous of the orpheus graben, Southeastern Canada: implications for the origin of chlorite rims[J]. AAPG Bulletin, 2008, 92(9): 1153-1168.
- [33] POURSOLTANI MR, GIBLING MR. Composition, porosity, and reservoir potential of the Middle Jurassic Kashafrud Formation, northeast Iran[J]. Marine and Petroleum Geology, 2011, 28(5): 1094-1110.
- [34] 邸胜杰, 吕振山. 吉林油田微生物采油应用技术研究[J]. 南方油气, 2005(3): 54-59.
- DI SJ, LÜ ZS. Research on microbial oil recovery application technology in Jilin oilfield[J]. Southern Oil and Gas, 2005(3): 54-59 (in Chinese).
- [35] HOU ZW, DOU XM, JIN R, WANG R, WANG YL, LI W. The application of MEOR in Daqing oilfields[C]//SPE Enhanced Oil Recovery Conference. Kuala Lumpur: Society of Petroleum Engineers, 2011.
- [36] TOWN K, SHEEHY AJJ, GOVREAU BRR. MEOR success in southern Saskatchewan[J]. SPE Reservoir Evaluation & Engineering, 2010, 13(5): 773-781.